



PCT/EP200 4 / 0 5 3 2 6 2

10. 12. 2004

REC'D 11 JAN. 2005

WIPO PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 15 NOV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr

BEST AVAILABLE COPY



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B14550 ALP-DD2665	

1 NATURE DE LA DEMANDE			
Demande de brevet			
2 TITRE DE L'INVENTION			
PROCÉDE DE CONCENTRATION DE PARTICULES.			
3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE			
Pays ou organisation Date N°			
4-1 DEMANDEUR			
Nom		COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE	
Rue		31-33, rue de la Fédération	
Code postal et ville		75752 PARIS 15ème	
Pays		France	
Nationalité		France	
Forme juridique		Etablissement Public de Caractère Scientifique, Technique et Indu	
5A MANDATAIRE			
Nom		LEHU	
Prénom		Jean	
Qualité		Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068	
Cabinet ou Société		BREVATOME	
Rue		3, rue du Docteur Lancereaux	
Code postal et ville		75008 PARIS	
N° de téléphone		01 53 83 94 00	
N° de télécopie		01 45 63 83 33	
Courrier électronique		brevets.patents@brevallex.com	
6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS			
Fichier électronique		Pages	Détails
Texte du brevet		22	D 18, R 3, AB 1
Dessins		7	page 7, figures 17, Abrégé: page 2, Fig.4
Désignation d'inventeurs			
Pouvoir général			

7 MODE DE PAIEMENT				
Mode de paiement		Prélèvement du compte courant		
Numéro du compte client		024		
8 RAPPORT DE RECHERCHE				
Etablissement immédiat				
9 REDEVANCES JOINTES				
	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
062 Dépôt	EURO	0.00	1.00	0.00
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	320.00	1.00	320.00
068 Revendication à partir de la 11ème	EURO	15.00	3.00	45.00
Total à acquitter	EURO			365.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : X

Demande de CU :

DATE DE RECEPTION	4 décembre 2003	
TYPE DE DEPOT	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	Dépôt en ligne: X Dépôt sur support CD:
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI	0350973	
Vos références pour ce dossier	B14550 ALP-DD2665	

DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	1
Pays	FR

TITRE DE L'INVENTION

PROCEDE DE CONCENTRATION DE PARTICULES.

DOCUMENTS ENVOYES

package-data.xml	Requetefr.PDF	application-body.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	fee-sheet.xml
FR-office-specific-info.xml	Comment.PDF	textebrevet.pdf
dessins.pdf	Indication-bio-deposit.xml	request.xml

EFFECTUE PAR

Effectué par:	J.Lehu
Date et heure de réception électronique:	4 décembre 2003 17:15:25
Empreinte officielle du dépôt	8C:43:32:EE:90:03:E0:75:99:56:6E:BB:25:BD:03:86:0D:A7:86:2C

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL
INSTITUT 28 bis, rue de Saint-Petersbourg
NATIONAL DE 75800 PARIS cedex 08
LA PROPRIÉTÉ Téléphone : 01 53 04 53 04
INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 93 59 30

PROCEDE DE CONCENTRATION DE PARTICULES

DESCRIPTION

5 DOMAINE TECHNIQUE ET ART ANTERIEUR

La présente invention concerne le domaine du traitement, et notamment de la concentration, de petites particules. Ces dernières peuvent être des
10 particules biologiques tels que des liposomes, des cellules animales ou végétales, des virus ou micro-organismes, des macromolécules telles que par exemple de l'ADN, de l'ARN ou des protéines, ou des particules inorganiques telles que des microbilles. Les domaines
15 d'applications peuvent être alors l'analyse chimique ou biomédicale ou le contrôle qualité (calibration de microparticules).

Les approches connues en matière de tri cellulaire de particules, comme la cytométrie en flux,
20 trouvent leurs limites notamment pour l'analyse de populations cellulaires rares ou très minoritaires.

La technique des pinces optiques repose sur le confinement d'une particule (microbille, ou cellule, ou macromolécule) par le gradient d'intensité généré au
25 cœur (« waist ») d'un faisceau laser continu. Elle est décrite par exemple dans l'article de « Ashkin and Dziedic » intitulé « Observation of radiation-pressure trapping of particles by alternating light beams », paru dans Physics Review Letters, 54(12), 1985. Cette
30 opération est rendue possible par l'équilibrage des pressions de radiations. Une fois cette opération

réalisée, on déplace la particule en déplaçant le faisceau.

Aussi, les distances de déplacement sont généralement limitées à quelques centaines de microns sur ce type de dispositif.

Enfin, le traitement, et notamment la concentration, de particules n'est pas possible.

La figure 1 représente le principe d'un tel dispositif.

10 Une particule 2 est confinée par un faisceau 4 dans un milieu liquide 6.

La figure 2 est un diagramme représentant un champ de force engendré par le dispositif, de part et d'autre du faisceau laser 4 : la particule se trouve
15 confinée dans un champ de forces mécaniques (induit par la pression de radiation provoquée par le champ électrique du laser), ce qui permet de la piéger.

Ce type de dispositif présente un inconvénient : le déplacement des particules repose sur
20 l'emploi d'un système mécanique dédié, qui peut s'avérer délicat et coûteux à mettre en place.

De récents travaux, tels que décrits par exemple dans l'article de T.Tanaka et al., paru dans Applied Physics Letters, Vol. 77, P. 3131, 2000 font
25 appel à des dispositifs d'optique guidée, et suggèrent la possibilité de concevoir un dispositif de déplacement cellulaire par des forces optiques ; cette technique est limitée aux objets de taille très inférieure à la taille d'une cellule biologique (billes
30 et colloïdes de l'ordre de quelques microns).

Comme illustré sur la figure 3, ce dispositif utilise un guide d'ondes 10 à ruban réalisé sur un substrat 12. Une particule est déplacée par une force de pression photonique, qui est proportionnelle à l'intensité lumineuse au niveau de cette dernière. La particule est maintenue sur le guide par une force qui est proportionnelle au gradient de l'intensité.

Dans le cas où le guide d'onde est monomode, il existe un maximum d'intensité lumineuse, en fait là où va se retrouver piégée la particule.

En outre, si l'on désire concentrer des objets tels que des cellules biologiques, on doit particulièrement faire attention à ne pas les endommager. Les méthodes de concentration faisant intervenir des flux de liquides (concentration par rétention sur une membrane par exemple) posent le problème d'une surpression éventuelle, très dommageable aux cellules, pouvant survenir suite à un encombrement du circuit de guidage.

L'utilisation de pinces optiques, bien que moins brutales pour des cellules, n'est pas pour autant envisageable puisque chaque pince ne peut manipuler qu'un seul objet et qu'il faudrait dans ce cas réaliser autant de manipulations qu'il y a de particules à déplacer. Cette méthode est assez lourde et nécessite un personnel qualifié et/ou un pilotage informatique très délicat.

Il se pose le problème de trouver un procédé et un dispositif permettant de concentrer des particules de manière simple et efficace.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne des systèmes permettant de concentrer des particules ou des objets, par exemple d'intérêts biologiques.

5 L'invention met en œuvre au moins un guide d'onde de longueur par exemple comprise entre quelques micromètres et quelques centimètres.

Des particules peuvent alors être concentrés en un ou plusieurs amas : les particules à
10 concentrer sont tout d'abord placées au voisinage d'une portion du guide. On injecte alors un rayonnement lumineux dans ledit guide d'onde qui permet de produire un gradient de forces permettant d'attirer l'ensemble des particules et de concentrer ces dernières en un
15 amas.

L'invention peut également mettre en œuvre plusieurs guides d'ondes et permettre de concentrer les
particules en un ou plusieurs amas. Ces amas peuvent
être répartis sur un ou sur plusieurs guides, ou
20 éventuellement sur chacun des guides d'ondes. Pour cela au cours de l'étape d'introduction du rayonnement lumineux, selon une variante, on peut introduire des rayonnements lumineux dans chacun des guides d'ondes. Selon une autre variante, on peut introduire un
25 rayonnement lumineux dans un ou plusieurs guides particuliers parmi l'ensemble des guides d'ondes.

Lesdits guides d'ondes peuvent être juxtaposés sur un support sans se croiser. Ils peuvent également être multiplexés et se rejoindre en au moins
30 un point de concentration. Dans ce cas, l'étape

d'injection peut permettre de concentrer les particules en un seul amas sur ce point de concentration.

Une fois concentrées sur un ou plusieurs guides d'ondes, les particules peuvent avoir tendance à se déplacer : le ou les amas de particules formés peuvent alors avoir tendance à se disloquer.

Selon caractéristique particulière de l'invention, on peut mettre en œuvre l'utilisation d'ondes stationnaires permettant d'empêcher ce déplacement. Ces ondes stationnaires peuvent être formées à partir du rayonnement lumineux utilisé, par exemple à l'aide d'un réseau de diffraction ou d'une boucle optique formée par le guide d'onde.

L'utilisation d'ondes stationnaires peut également permettre de maintenir les particules concentrées en plusieurs amas fixes sur un même guide d'onde.

Ledit rayonnement lumineux injecté peut être compris entre l'ultraviolet et l'infrarouge. Il est choisi notamment suivant des critères tels que la nature des particules que l'on souhaite concentrer, ainsi que la rapidité à laquelle cette concentration doit être effectuée.

Les particules que l'on souhaite concentrer peuvent être des objets issus d'un procédé de micro-fabrication comme par exemple des microbilles de taille comprise entre quelques nanomètres et une centaine de micromètres. Ces particules peuvent être également par exemple des éléments biologiques tels que des cellules, des macromolécules telles que des protéines, de l'ADN, de l'ARN.

Selon une caractéristique particulière du procédé suivant l'invention, les particules à trier, peuvent être marquées avant d'être placées sur ledit support utilisé. Cela peut permettre d'augmenter la
 5 différence d'indice des particules vis-à-vis de leur environnement et permettre ainsi d'améliorer la concentration de ces dernières lorsque l'on injecte le rayonnement lumineux.

Par exemple, lorsque les particules à
 10 concentrer sont des cellules, le marquage peut être effectué par d'autres particules, de marquage, à base par exemple de métal tel que l'or ou de polymère. Ces particules de marquage peuvent être par exemple des microbilles.

15 Le procédé suivant l'invention peut être réalisé dans un milieu liquide tel que l'eau, ou une solution tampon, ou un milieu de suspension cellulaire.

Le procédé peut être effectué dans un tel milieu notamment lorsque les particules à trier sont
 20 des éléments biologiques.

L'invention concerne également un dispositif de concentration de particules comprenant un ou plusieurs guides d'ondes, les guides d'ondes étant entourés de part et d'autres d'au moins deux réseaux de
 25 diffraction.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

La présente invention sera mieux comprise à la lecture de la description d'exemples de réalisation donnés, à titre purement indicatif et nullement

limitatif, en faisant référence aux dessins annexés sur lesquels:

Les figures 1, 2, 3, illustrent des techniques de l'art antérieur,

5 - les figures 4A-4B, illustrent un exemple général de procédé de concentration de particules suivant l'invention,

 - les figures 5A-5B illustrent des exemples de dispositifs permettant de concentrer des particules
10 en un ou plusieurs amas fixes sur un même guide d'onde.

 - les figures 6A-6B illustrent un exemple de procédé de concentration de particules suivant l'invention, dans lequel on utilise plusieurs guides d'ondes juxtaposés,

15 - la figure 7 illustre un exemple de dispositif permettant de regrouper plusieurs amas de particules répartis sur différents guides d'ondes, en un seul amas de particules,

 - la figure 8 illustre un exemple de
20 dispositif permettant de favoriser la concentration de particules sur un guide d'onde,

 - la figure 9 illustre un exemple de dispositif permettant d'observer la concentration de particules sur un guide d'onde,

25 - les figures 10A-10D et 11 illustrent un exemple de procédé de réalisation de guides d'ondes pouvant être utilisés au cours du procédé suivant l'invention,

30 Des parties identiques, similaires ou équivalentes des différentes figures portent les mêmes

références numériques de façon à faciliter le passage d'une figure à l'autre.

Les différentes parties représentées sur les figures ne le sont pas nécessairement selon une échelle uniforme, pour rendre les figures plus lisibles.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

Un exemple général de procédé selon la présente invention, va à présent être décrit en liaison avec les figures 4A-4B.

Ce procédé permet de concentrer ou regrouper un ensemble de particules 100. Le regroupement peut être réalisé de façon à former un ou plusieurs amas de particules.

Par particules on entend des éléments organiques ou inorganiques ou des objets de taille pouvant aller de 5 nanomètres à 100 micromètres. Ces particules peuvent être par exemple des éléments biologiques tels que des liposomes, des virus, des microorganismes, cellules animales ou végétales, des macromolécules telles que par exemple des protéines, de l'ADN, de l'ARN, ou des micro-objets, tels que par exemple des microbilles à base de métal ou d'un matériau diélectrique.

Le procédé de concentration suivant l'invention est effectué sur un support 104, par exemple en verre ou en silicium, d'indice optique de préférence différent ou très différent de celui des particules que l'on souhaite regrouper. Ce support 104 comporte au moins un guide d'onde 108 intégré multi-

mode ou monomode d'une longueur par exemple comprise entre quelques micromètres et quelques centimètres.

Selon une première étape du procédé, les particules 100 sont tout d'abord placées dans une zone 102 à proximité ou/et sur le guide d'onde 108, à l'aide d'une méthode manuelle ou automatisée.

Ensuite, à l'aide d'un dispositif optique 112 intégré ou non au support 104, on injecte dans le guide optique, un rayonnement lumineux R. Le rayonnement injecté a une longueur d'onde comprise entre le proche ultraviolet et l'infrarouge, par exemple comprise entre 300 nm et 1200 nm (figure 4A).

Le rayonnement lumineux R peut être choisi notamment en fonction du type de particules que l'on souhaite concentrer, et éventuellement de la vitesse à laquelle on souhaite regrouper ces particules.

Par exemple, dans le cas où les particules sont des éléments biologiques tels que des cellules, on pourra utiliser une longueur d'onde située entre le rouge et l'infrarouge, par exemple à l'aide d'un laser YAG de longueur d'onde 1064 nm. La puissance du rayonnement pourra être de l'ordre de quelques dizaines de milliwatts à quelques centaines de milliwatts, par exemple comprise entre 50 mW et 1 W, par exemple voisine de 150 mW.

Le rayonnement lumineux R à travers le guide d'onde 108 crée un gradient de forces \vec{f} dirigées vers ce dernier. Ce gradient de forces permet d'attirer et de concentrer les particules 100 sur le guide d'onde 108. Les particules 100 forment alors un amas 106 (figure 4B).

La rapidité du regroupement des particules pourra varier selon la masse, le volume, l'indice optique de ces dernières, ainsi que selon la longueur d'onde du rayonnement lumineux utilisé.

5 Si l'étape d'injection du rayonnement lumineux est prolongée, l'amas 106 peut avoir tendance à se disloquer. En effet, Les particules peuvent avoir tendance à se déplacer le long du guide d'onde 108 dans la direction de propagation du rayonnement lumineux.

10 Si l'on souhaite empêcher ce phénomène, on peut, selon une variante, stopper l'injection de rayonnement lumineux dès lors que l'amas 106 de particules 100 est formé.

15 Selon une autre variante, on peut bloquer les particules 100 une fois qu'elles sont sur le guide d'onde, par exemple au moyen d'ondes stationnaires. Ces ondes stationnaires peuvent être formées, en transformant le rayonnement lumineux R dans le guide d'onde par exemple au moyen d'un ou plusieurs réseaux de diffraction, ou en réalisant un système de boucle optique.

20 La figure 5A concerne un dispositif tel que celui illustré aux figures 4A et 4B. Le guide d'onde 108 comprend en outre un réseau de diffraction intégré 200, permettant de transformer le rayonnement lumineux produit par le dispositif optique 112 en ondes stationnaires.

25 L'utilisation d'ondes stationnaires à travers le guide d'onde 108, peut permettre en outre de concentrer et maintenir les particules en plusieurs amas 202, 204, 206 formés le long d'un même guide 108.

Ces amas 202, 204, 206, se situent en des endroits du guide d'onde où l'intensité lumineuse est maximale.

La courbe C illustrée sur la figure 5A
5 représente la variation d'amplitude d'une onde stationnaire issue du rayonnement R, Le long d'un axe z transversal au guide d'onde et suivant le sens de propagation du rayonnement R. Les maxima de la courbe C correspondent aux endroits du guide d'onde 108 où sont
10 regroupés les amas de particules.

Selon une variante, pour réaliser une onde stationnaire dans le guide d'onde, on peut utiliser un guide formant au moins une boucle 210 tel que celui illustré à la figure 5B. Une telle boucle peut
15 permettre à un rayonnement lumineux, lorsqu'il parcourt le guide d'onde, d'adopter au moins deux trajets différents. Ainsi deux ondes lumineuses, de même longueur et de même amplitude, se propageant dans des sens opposés, peuvent se rencontrer et interférer.

20 Le procédé de concentration de particules suivant l'invention peut également être réalisé à l'aide d'un dispositif comportant plusieurs guides d'ondes. On souhaite, à l'aide d'un tel dispositif, concentrer en un ou plusieurs amas, un groupe de
25 particules placées dans une zone à proximité des différents guides d'ondes.

Cette variante peut être réalisée par exemple à l'aide d'un support comprenant plusieurs guides d'ondes juxtaposés et espacés entre eux d'une
30 certaine distance. Ces guides d'ondes peuvent être de

largeur ou/et de longueur différentes et éventuellement à base de matériaux différents.

Pour réaliser le regroupement des particules, une première méthode consiste à injecter un rayonnement lumineux dans un seul des guides d'ondes. Si la distance entre les différents guides d'ondes juxtaposées est suffisamment faible, un couplage entre les guides peut se produire et le rayonnement lumineux se propage alors dans un ou plusieurs des autres guides. Lorsque le couplage se produit, les particules peuvent être attirées par des gradients de forces provenant des différents guides et se concentrer en plusieurs amas répartis sur ces différents guides.

Cependant, lors d'un couplage entre plusieurs guides, un phénomène d'oscillation des particules d'un guide d'onde à un autre peut éventuellement apparaître. Un autre phénomène lors duquel des particules restent bloquées entre deux guides d'ondes peut également éventuellement se produire.

Pour rendre le procédé de concentration optimal, et empêcher ces deux phénomènes, on peut fixer la distance entre les guides d'ondes à une valeur supérieure à une distance minimale pouvant permettre un couplage entre les différents guides. Cette distance minimale est dépendante notamment des propriétés géométriques du guide, de l'indice de réfraction des matériaux qui le constituent, de la longueur d'onde du rayonnement utilisé. Elle peut être de l'ordre de quelques micromètres, par exemple supérieure à 5 μm , à

plusieurs dizaines de micromètres, par exemple comprise entre 5 μm et 50 μm .

Un exemple de dispositif comprenant plusieurs guides d'ondes 211, 212, 213, juxtaposées et
5 espacées entre eux d'une distance e , est illustré à la figure 6A. La distance e est fixé de manière à éviter le couplage entre les différents guides d'ondes, à une valeur par exemple de l'ordre d'une ou plusieurs
dizaines de micromètres, par exemple 10 ou 20 μm . Pour
10 réaliser la concentration de particules 100 situées à proximité des guides d'ondes 211, 212, 213, on peut injecter des rayonnements lumineux différents R_1 , R_2 , R_3 , dans chacun des guides d'ondes 211, 212, 213 (figure 6A). Cela permet de concentrer les particules 100 en
15 plusieurs amas 214, 215, 216 répartis sur différents guides d'onde (figure 6B).

A la suite de ce procédé, on peut éventuellement regrouper les différents amas de
particules répartis sur plusieurs guides d'ondes en un
20 seul amas.

Pour cela, on peut utiliser un support 104 comprenant plusieurs guides d'ondes juxtaposés et multiplexés. Ces guides se rejoignent en un point de concentration 220 (figure 7). L'injection de
25 rayonnements lumineux à travers chacun des guides d'ondes provoque la concentration des particules en plusieurs amas répartis sur les différents guides d'ondes. Ensuite, si l'on prolonge l'émission de rayonnements lumineux, les particules 100 ont tendance
30 à se déplacer selon les directions de propagation des rayonnements (indiquées sur la figure 4 par des

flèches). Les particules 100 se dirigent alors vers le point de concentration, Les particules 100 se concentrent en un seul amas.

Pour améliorer la concentration des
5 particules, une méthode consiste à produire des forces de radiation supplémentaires \bar{F}_{sup} sur les particules 100, s'ajoutant aux forces de gradient créées par le guide d'onde. Ces forces de radiation supplémentaires \bar{F}_{sup} peuvent être produites, par exemple, par des
10 réseaux de diffraction 212 situés de part et d'autres du guide d'onde à travers lesquels on injecte des rayonnements R' lumineux supplémentaires (figure 8).

Le procédé selon la présente invention peut s'appliquer à des particules biologiques telles que des
15 cellules animales ou végétales que l'on souhaite concentrer. Pour concentrer des particules biologiques, on utilise un support, par exemple en verre, comportant au moins un guide d'ondes.

Le support peut être plongé dans une
20 solution liquide, de préférence biocompatible, permettant de préserver les cellules.

Dans un échantillon cellulaire hétérogène, on cherche à isoler une certaine sous population caractérisée par un phénotype spécifique, par exemple
25 la présence d'un certain type de macromolécules de surface, telles que des protéines par exemple. Par ailleurs, on dispose de molécules sondes, comme des anticorps, capables de reconnaître et de se lier avec une très forte affinité à ces marqueurs phénotypiques.
30 Dans le cas de molécules sondes de type anticorps, les marqueurs phénotypiques sont appelés des antigènes. Par

des moyens connus de l'homme de l'art, les anticorps sont fixés à des billes choisies pour leurs caractéristiques particulières, par exemple des billes d'or. Ces billes d'or fonctionnalisées sont ensuite greffées sur la surface des cellules, ces dernières peuvent, par exemple, être des lymphocytes isolés du sang et que l'on souhaite concentrer.

Un prélèvement d'un groupe de cellules marquées est tout d'abord effectué par exemple à l'aide d'une pipette. On dépose ensuite ledit prélèvement, dans un réceptacle du support. Ce réceptacle peut être une chambre telle que par exemple une chambre de type Gene Frame ®. Cette chambre autocollante, très simple, possède un système de jointure imperméable aux gaz, permet une résistance à des températures élevées. Le réceptacle n'est pas limité à ce type de chambre.

Le groupe de cellules peut être transféré depuis le réceptacle vers une zone placée à proximité du guide d'onde, par exemple au moyen d'un ou plusieurs capillaires.

Ensuite, on injecte un rayonnement lumineux, à travers ledit guide d'onde. Le rayonnement utilisé lors d'un tri de cellules sera de préférence inoffensif vis-à-vis des cellules. Ainsi, le rayonnement lumineux utilisé peut être un rayonnement laser émettant à une longueur d'onde située entre le rouge lointain et le proche infrarouge, par exemple comprise entre 1000 nm et 1200 nm, par exemple voisine de 1064 nm.

Le passage du rayonnement laser à travers le guide d'onde crée un gradient de forces dirigées

vers le guides et permettant d'attirer les cellules.

Les cellules se trouvent alors concentrées en un amas.

D'une manière générale, des moyens
5 d'observation peuvent être prévus, par exemple une caméra CCD positionnée au-dessus du guide 108. Ces moyens vont permettre une surveillance du tri opéré de la manière décrite ci-dessus.

La figure 9 représente un système de
10 concentration de particules 100 sur un support 104 incorporant un système de guides selon l'invention. Un objectif 300 permet la focalisation d'un faisceau laser R (par exemple un YAG à 1064 nm) dans un guide 108. Les particules à trier sont contenues dans une chambre 310
15 disposée sur une lame 320. Une caméra 330 permet de réaliser une image de la concentration, par exemple par l'intermédiaire d'un dispositif de focalisation ou d'un zoom 340. En sortie du dispositif peuvent être également disposés des moyens 350, 360 (objectif,
20 caméra) pour former une image du rayonnement transmis.

Un dispositif permettant de réaliser le procédé de concentration suivant l'invention tels que ceux précédemment décrits, comprenant notamment par exemple un support, et un ou plusieurs guide d'onde,
25 peut être intégré dans un MEMS (MEMS pour microsystème électromécanique) ou dans une puce (« lab on a chip »).

Les guides d'ondes utilisés lors du procédé suivant l'invention peuvent être réalisés par exemple par des techniques de réalisation en couches minces, ou
30 encore par exemple par une méthode d'échange d'ions.

Le support sur lequel ces guides sont formés peut être par exemple à base de verre.

Pour former le guide d'ondes, on recouvre tout d'abord le support 140 d'une couche mince
5 métallique 142, par exemple à base d'aluminium, par une méthode telle que l'évaporation ou la pulvérisation. Cette couche d'aluminium est ensuite recouverte d'une couche de résine 144, par exemple une couche de résine photosensible.

10 Pour réaliser les motifs des guides d'ondes dans le support, on expose tout d'abord la couche de résine photosensible par exemple à l'aide d'un faisceau de rayons ultraviolets 148 et à travers un masque 146, par exemple en chrome. Le masque 146 comporte une copie
15 des motifs de guide d'onde ou des négatifs des motifs de guides d'onde (figure 10A) Les zones de la couche de résine 144 qui ne sont pas cachées par le masque voient leurs structures chimiques modifiées.

Après l'étape d'exposition, on effectue le
20 développement de la couche de résine photosensible 144. Ainsi, les zones dans lesquelles la structure chimique a été modifiée par l'insolation sont gravées (figure 10B).

Ensuite, on réalise une gravure de la
25 couche d'aluminium à travers la couche de résine (figure 10C) en plongeant par exemple le support dans une solution de gravure de l'aluminium (AluEtch). Cette solution n'attaque pas la résine. Ainsi, seules les parties développées précédemment sont gravées.

30 La couche de résine 144 est alors retirée par exemple à l'aide d'acétone (figure 10D).

Puis une étape d'échange d'ions est effectuée pour former les guides d'ondes. Le support est alors plongé dans un bain de sels contenant du nitrate d'argent et du nitrate de sodium. La proportion entre ces sels détermine la teneur en argent qui s'échange dans le verre 140. Le bain contient généralement entre 10% et 50% d'argent suivant l'application. La température de fusion des sels étant d'environ 310°C, l'étape d'échange est effectuée entre 10 320°C et 350°C (figure 11).

La couche d'aluminium est ensuite retirée par gravure. On peut éventuellement réaliser un recuit : la plaque de verre est chauffée sans aucun contact avec un bain. Cette étape permet de faire 15 pénétrer plus profondément les ions d'argent vers l'intérieur du support.

On peut de cette manière former un guide 104 tel celui de la figure 1A.

On peut aussi mettre en oeuvre d'autres 20 procédés, par exemple pour réaliser un guide sur un substrat en silicium.

Afin de réduire des effets de freinage sur les particules, du fait d'un frottement contre la surface supérieure du guide, on peut revêtir celui-ci 25 d'un revêtement spécial, par exemple une fine couche à base de téflon.

REVENDICATIONS

1. Procédé de concentration de particules (100) comprenant les étapes de:

- 5 a) placement desdites particules à proximité ou/et sur au moins un guide d'onde (108) d'un support (104),
b) injection d'un rayonnement lumineux R dans ledit guide d'onde, l'injection permettant le regroupement des particules sur le guide en un ou plusieurs amas.

10

2. Procédé de concentration de particules dans lequel ledit support comporte plusieurs guides d'ondes, l'étape b) conduisant à la formation de plusieurs amas répartis sur un ou plusieurs desdits guides d'ondes.

15

3. Procédé de concentration de particules selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel ledit rayonnement lumineux R forme une ou des ondes stationnaires, permettant de concentrer les particules en plusieurs amas (202, 204, 206) stationnaires sur un même guide d'onde (108).

20

4. Procédé selon la revendication 3, les ondes stationnaires étant produites par au moins un réseau de diffraction (200).

25

5. Procédé selon la revendication 3, dans lequel le guide d'onde forme au moins une boucle optique (210), les ondes stationnaires étant produites

30

par le passage du rayonnement à travers cette boucle optique.

5 6. Procédé selon la revendication 5, dans lequel les guides d'ondes se rejoignent en au moins un point de concentration (220), l'étape b) conduisant à la formation d'un seul amas situé sur le point de concentration.

10 7. Procédé selon la revendication 1 à 6 comportant en outre une étape de marquage des particules préalablement à l'étape a), afin de modifier leur indice optique.

15 8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, les particules étant des cellules ou des macromolécules ou des microbilles.

20 9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, le rayonnement introduit étant dans un domaine spectral compris entre le proche ultraviolet et l'infrarouge.

25 10. Procédé selon la revendication 9, dans lequel le rayonnement est situé dans le domaine entre le rouge visible et l'infrarouge.

 11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, les particules baignant dans un liquide.

12. Procédé selon la revendication 11, le liquide étant de l'eau.

13. Dispositif de concentration de
5 particules comprenant un ou plusieurs guides d'ondes, les guides d'ondes étant entourés de part et d'autres d'au moins deux réseaux de diffraction (212).

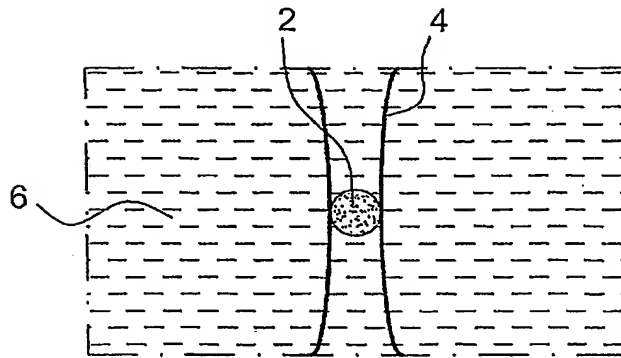


FIG. 1

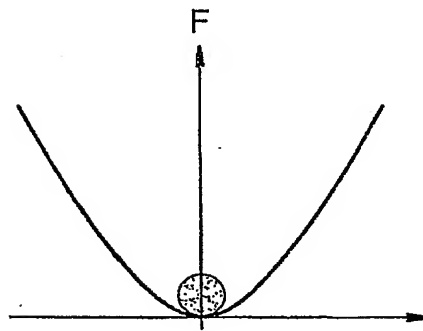


FIG. 2

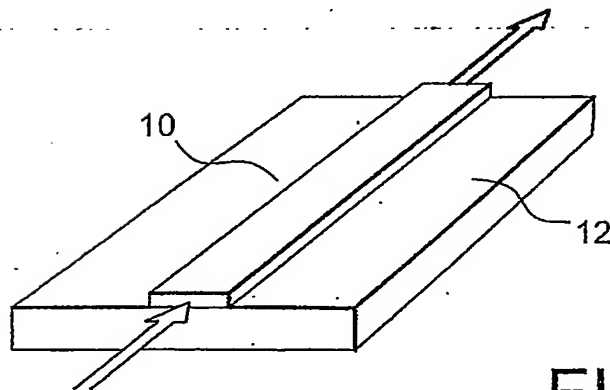


FIG. 3

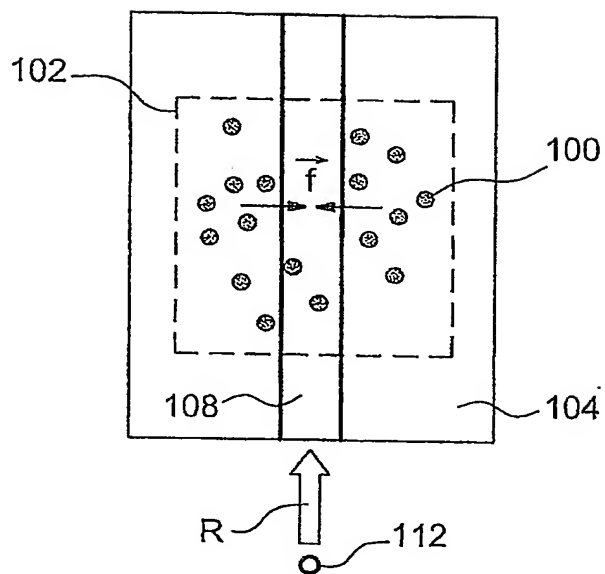


FIG. 4A

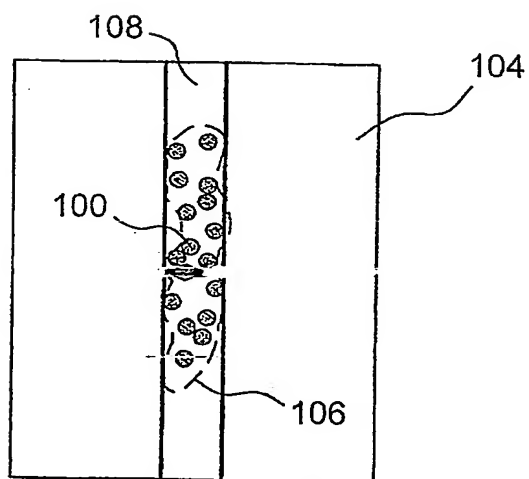


FIG. 4B

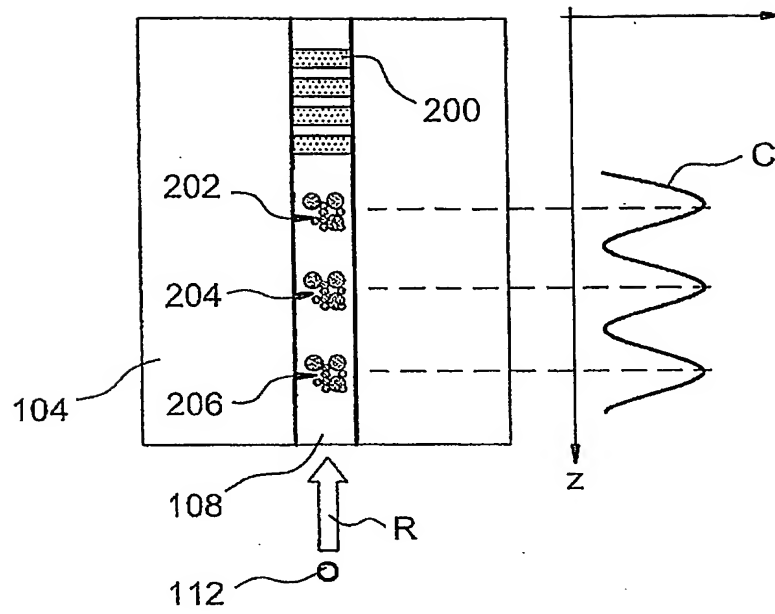


FIG. 5A

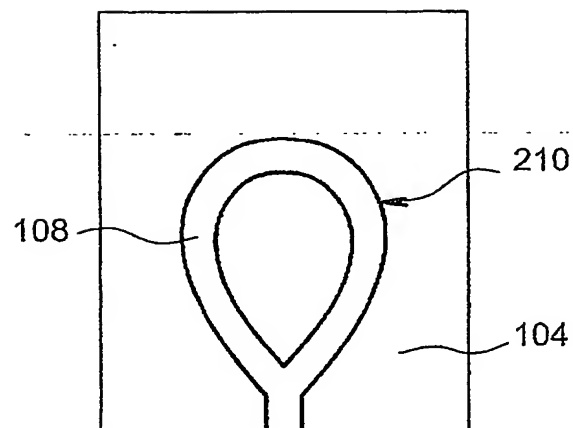


FIG. 5B

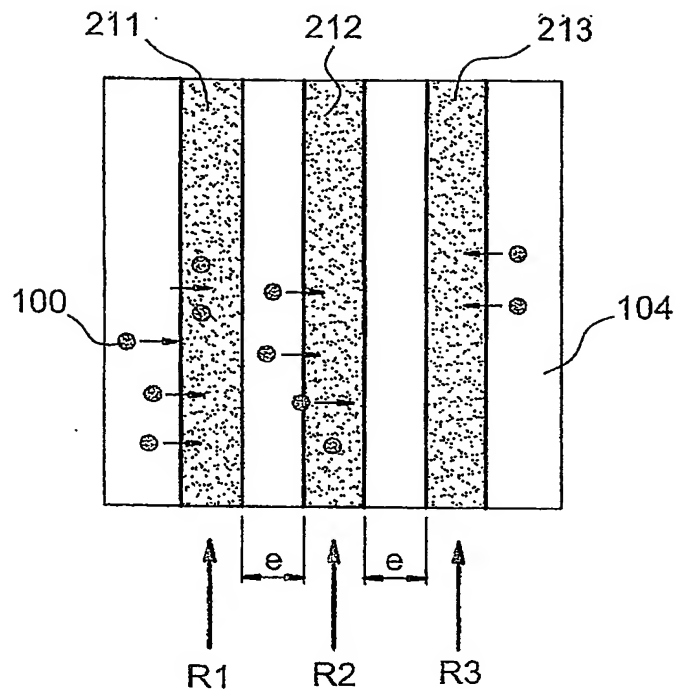


FIG. 6A

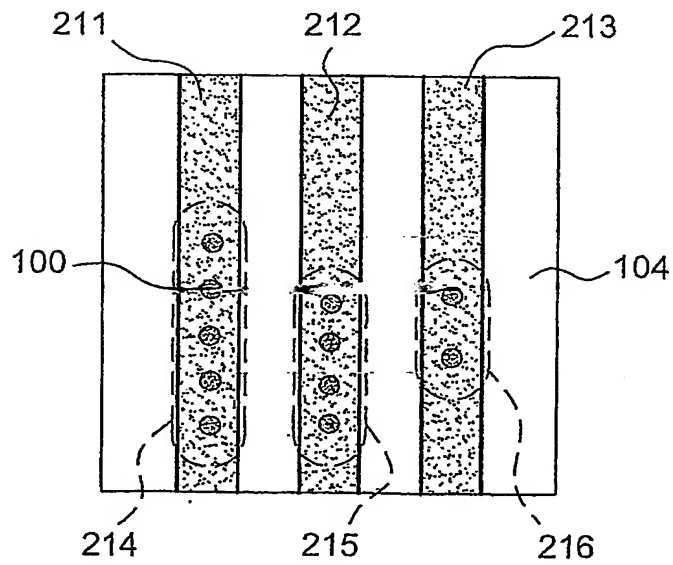


FIG. 6B

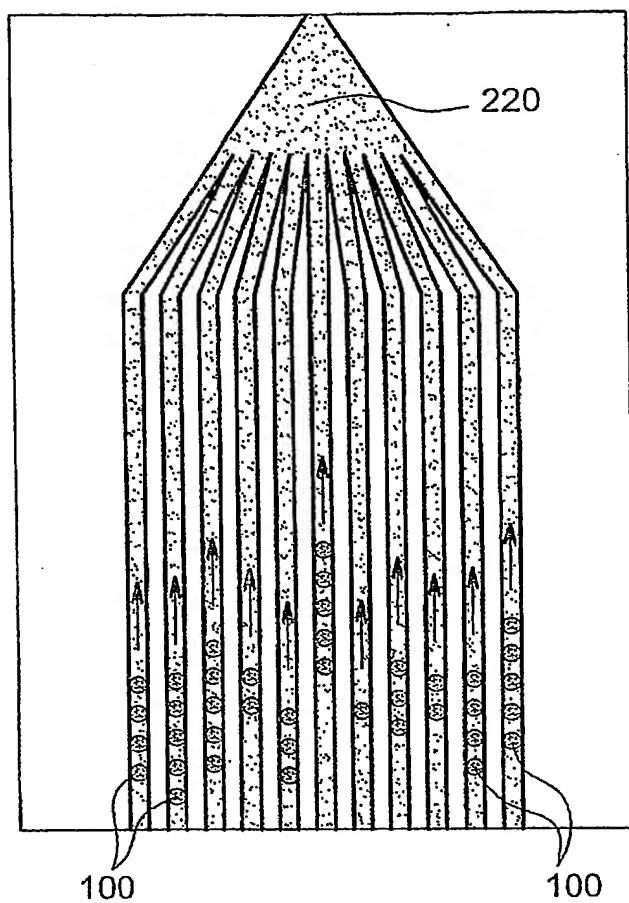


FIG. 7.

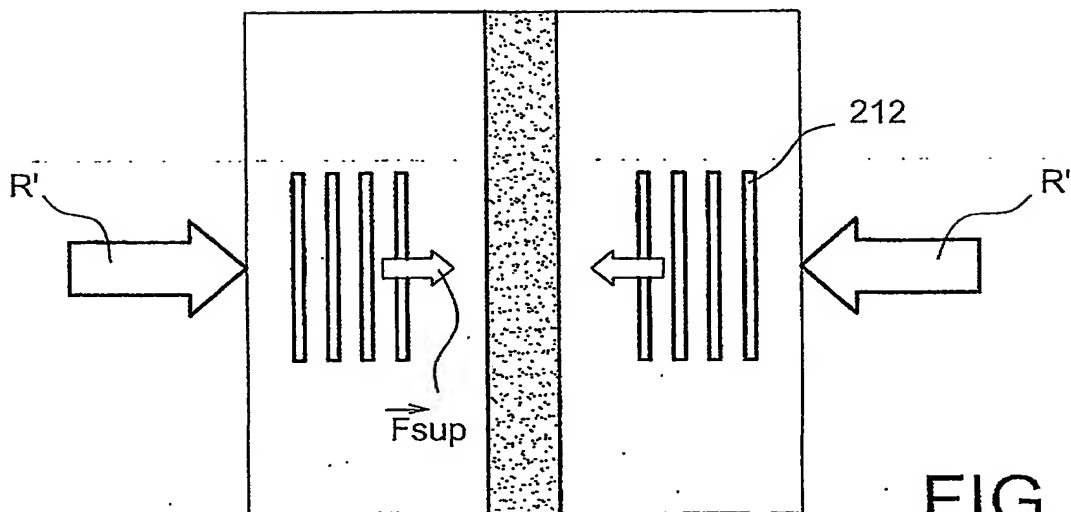


FIG. 8

FIG. 9

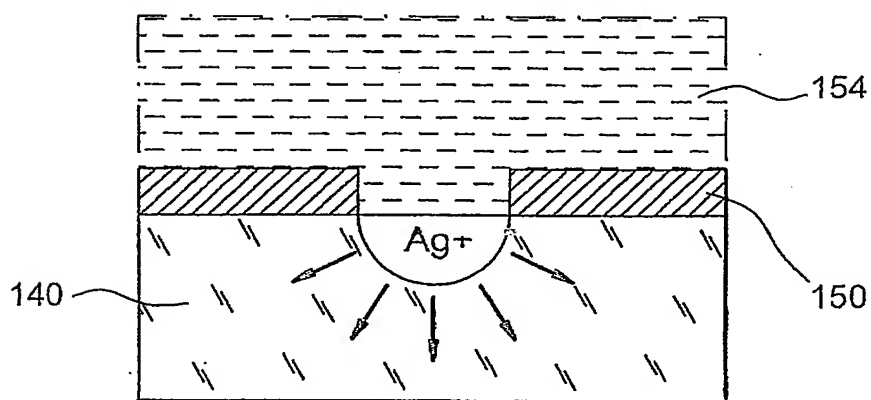
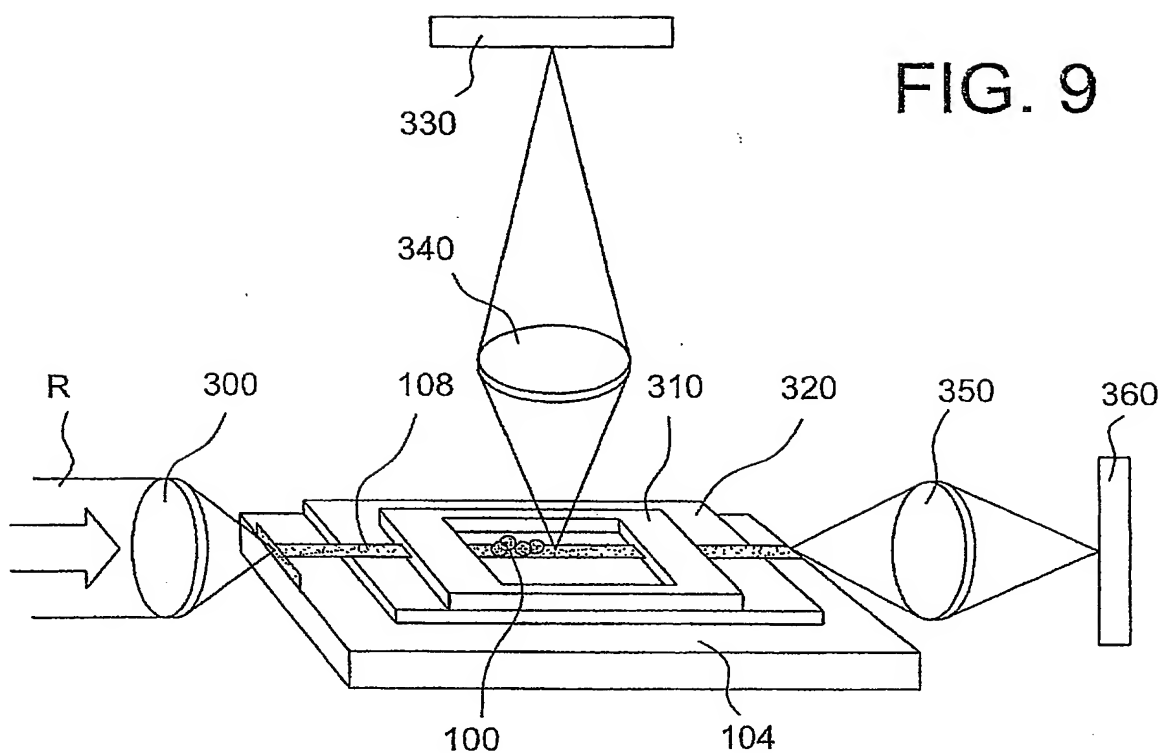


FIG. 11

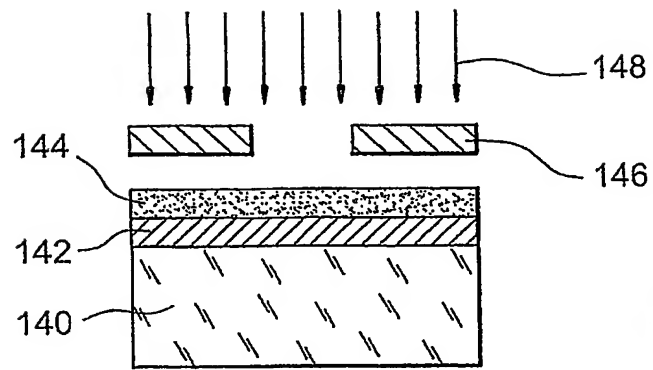


FIG. 10A

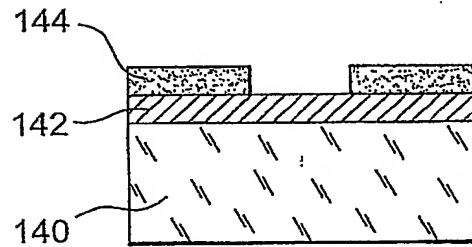


FIG. 10B

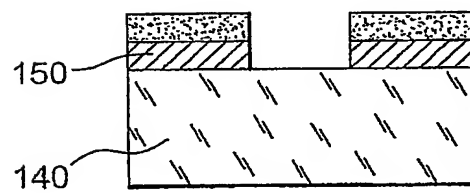


FIG. 10C

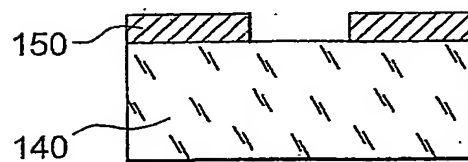


FIG. 10D

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	B14550 ALP-DD2665
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION	
	PROCEDE DE CONCENTRATION DE PARTICULES.
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	GETIN
Prénoms	Stéphane
Rue	41, rue des Eaux Claires
Code postal et ville	38100 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	FUCHS
Prénoms	Alexandra
Rue	Le Bressot
Code postal et ville	38470 BEAULIEU
Société d'appartenance	
Inventeur 3	
Nom	COLAS
Prénoms	Guillaume
Rue	2 rue Raymond Bank
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 4	
Nom	GAUGIRAN
Prénoms	Stéphanie
Rue	6 rue Vicat
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'information des citoyens et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.